製品コード RR290

研究用

TaKaRa

Mouse Feeder Cell Quantification Kit

説明書

v201312Da_2

I. 製品説明

I - 1. 製品概要

hESC（ヒト胚性幹細胞）や hiPSC（ヒト人工多能性幹細胞）の幹細胞培養において、細胞の増殖や分化に必要な環境を整えるため補助的にマウスフィーダー細胞を用いることがあります。将来の再生医療応用を考えた場合、異種フィーダー細胞はなるべく除去する必要があり、幹細胞の品質を担保するためには残存マウス細胞の検出系が必須となります。Mouse Feeder Cell Quantification Kit は、hESC や hiPSC などの培養幹細胞から抽出したゲノム DNA を鋳型として、残存しているマウスフィーダー細胞由来のゲノム DNA をリアルタイム PCR 装置を用いて高感度に検出・定量するキットです。

本製品ではマウスフィーダー細胞由来のゲノム DNA を高感度に検出するため、マウスミトコンドリア（mt）DNA 領域にリアルタイム PCR 用プライマーを設計しています。mtDNA は、細胞種や細胞株、分化状態によりそのコピー数が変動することが知られており、マウスフィーダー細胞においても使用ロット間で変動する可能性があるため、オプションとしてマウス mtDNA コピー数を測定できるプライマーセットを添付しています。マウスフィーダー細胞のロット間補正＊などにご利用ください。

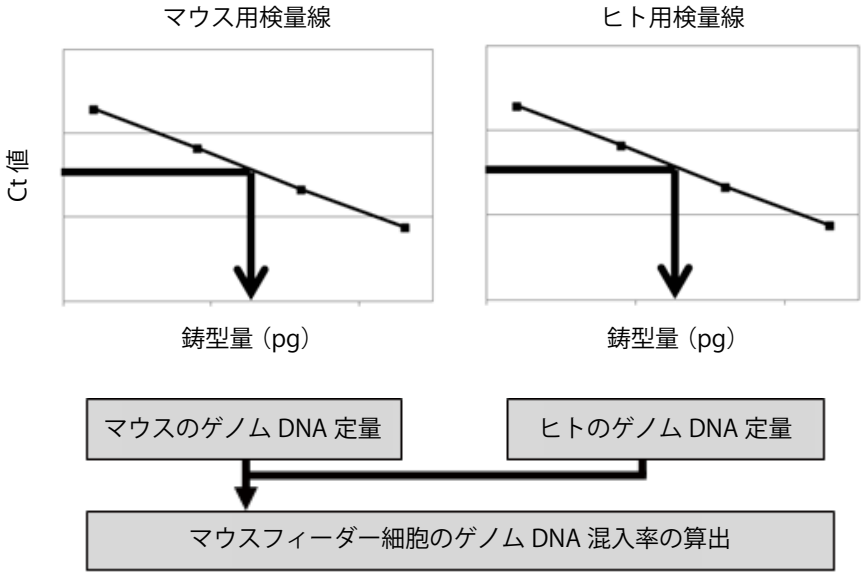
＊：同じ検量線を用いて、複数ロットのマウスフィーダー細胞由来ゲノム DNA を定量する際は、各ロット間で mtDNA コピー数に差がないことを確認する必要があります。尚、マウスフィーダー細胞について使用ロット毎に検量線を作成する場合は、補正の必要はありません。

I - 2. 定量原理

本製品では、以下の方法で定量解析を行います。

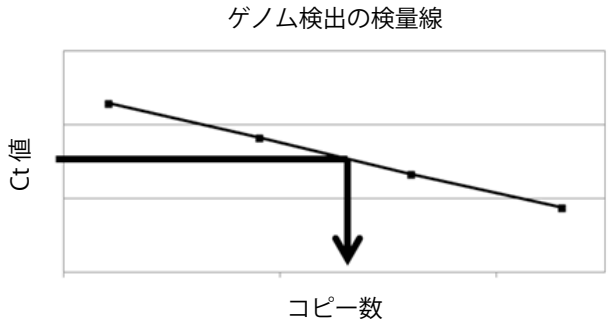
（A）マウスフィーダー細胞由来ゲノム DNA の混入率の算出

検体に含まれるマウスとヒトのゲノム DNA に対して、各々リアルタイム PCR 定量解析を行い、作成した検量線から検体に含まれる各ゲノム DNA を定量して、マウスフィーダー細胞由来のゲノム DNA 混入率を算出します。



（B）マウス細胞のミトコンドリア DNA（mtDNA）コピー数の算出方法（オプション）

リアルタイム PCR を利用して、マウス mtDNA コピー数を核 DNA（nDNA）を基準として相対的に定量します。マウスゲノム DNA 検体中の nDNA と mtDNA に対して、各々リアルタイム PCR 解析を行い、nDNA について検量線を作成（縦軸：Ct 値（SDM）、横軸：コピー数）した後、mtDNA の Ct 値を検量線にあてはめることで相対的なコピー数を算出します。



※ nDNA と mtDNA の各検出プライマーは、各々マウスゲノム DNA 上で 1 コピー存在する遺伝子を標的とし、リアルタイム PCR 解析において増幅効率（E）がほぼ同等となるように設計しています。

II. キットの内容（100 反応分、25 μl PCR 反応系）

（1）	SYBR® *Premix Ex Taq*™ II（Tli RNaseH Plus）（2 × Conc.）	625 μl × 4
（2）	Mouse_Mt_primer（10 μM each）	100 μl
（3）	Mouse_genome_primer（10 μM each）	100 μl
（4）	Human_primer_Type I（CHR3）（10 μM each）	100 μl
（5）	Human_primer_Type II（CHR7）（10 μM each）	100 μl
（6）	Human_primer_Type III（CHR15）（10 μM each）	100 μl
（7）	dH_2O	1 ml × 2
（8）	EASY Dilution（for Real Time PCR）	1 ml × 2
（9）	ROX Reference Dye（50 × Conc.）＊	50 μl
（10）	ROX Reference Dye II（50 × Conc.）＊	50 μl
（11）	Human Genomic DNA（100 ng/μl）	20 μl

＊：Life Technologies 社製リアルタイム PCR 装置など、ウェル間の蛍光シグナルの補正を行う装置で解析する場合に使用します。

◆ ROX Reference Dye を添加する機種
- StepOnePlus Real-Time PCR System（Life Technologies 社）

◆ ROX Reference Dye II を添加する機種
- Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR System（Life Technologies 社）

◆添加の必要がない機種
- Thermal Cycler Dice® Real Time System シリーズ（製品コード TP900/TP960 など）

III. 保存

輸送　　－ 20℃ / － 80℃

保存

SYBR *Premix Ex Taq* II（Tli RNaseH Plus）

4℃保存：6 ヵ月安定
必ず遮光してください。また、コンタミネーションには十分注意してください。

※ 長期保存する際は、－ 80℃で保存してください。（－ 20℃保存は避けてください。）いったん融解したものは 4℃で保存し、6 ヵ月を目処にご使用ください。

その他のコンポーネント

－ 20℃保存

IV. キット以外に必要な試薬・機器（主なもの）

（1）検量線作成用ゲノム DNA：VI.（A）参照

（2）ゲノム DNA 抽出用試薬
- NucleoSpin Tissue（製品コード 740952.10/.50/.250）
- NucleoSpin Tissue XS（製品コード 740901.10/.50/.250）など

（3）リアルタイム PCR 装置
- Thermal Cycler Dice Real Time System *II*（製品コード TP900/TP960）
- Thermal Cycler Dice Real Time System Single（製品コード TP850/TP870）
- Thermal Cycler Dice Real Time System *Lite*（製品コード TP700/TP760）など

（4）マイクロ遠心機

（5）リアルタイム PCR 専用反応チューブあるいはプレート
- 0.2 ml Hi-8-Tube（製品コード NJ300）
- 0.2 ml Hi-8-Dome Cap（製品コード NJ301）
- 96 well Hi-Plate for Real Time（製品コード NJ400）
- Sealing Film for Real Time（製品コード NJ500）など

（6）マイクロピペットおよびチップ（滅菌処理もしくはオートクレーブ処理したもの）

V. プライマーについて

V - 1. プライマー情報

プライマーは、以下の染色体（または mtDNA）の遺伝子領域に設計されています。

プライマー名称	Symbol	CHR	Accession No.
Mouse_Mt_primer	COXII	M＊1	－
Mouse_genome_primer	Rplp1	9	NM_018853
Human_primer_Type I（CHR3）	ALAS1	3	NM_000688
Human_primer_Type II（CHR7）	PPIA	7	NM_021130
Human_primer_Type III（CHR15）	B2M	15	NM_004048

＊ 1：M=mitochondria を示します。

V - 2. プライマーの選択

(A) マウスフィーダー細胞由来ゲノム DNA の混入率の算出

マウス検出（mtDNA）	ヒト検出（核 DNA）
Mouse_Mt_primer を使用	Human_primer_Type I ～ III から 1 つ選択＊2

＊2：Human_primer については、CNV（遺伝子コピー数変異）等の染色体変異に対応できるように 3 種類設計しています。
各培養細胞の CNV 変異に合わせて、Type I ＝ 3 番染色体、Type II ＝ 7 番染色体、Type III ＝ 15 番染色体の primer から 1 つを選択してください。

(B) マウス細胞の mtDNA コピー数の算出（オプション）

核 DNA 検出	ミトコンドリア DNA 検出
Mouse_genome_primer	Mouse_Mt_primer

VI. 定量方法

(A) マウスフィーダー細胞由来ゲノム DNA の混入率の算出

解析サンプルと検量線用ゲノム DNA について

	ゲノム DNA の取得法	使用濃度	使用量
解析サンプル	検体（培養細胞など）からゲノム DNA を調製してください。	10 ng/μl	2 μl
検量線用マウスゲノム DNA	培養時に使用したマウスフィーダー細胞からゲノム DNA を調製してください。＊1	100 pg/μl、10 pg/μl、1 pg/μl、0.1 pg/μl	
検量線用ヒトゲノム DNA	フィーダーフリー hES/hiPS 細胞からゲノム DNA を調製するか、または添付の「Human Genomic DNA＊2」をご利用ください。	10 ng/μl、2 ng/μl、400 pg/μl、80 pg/μl	

＊1：検出感度を上げるためにミトコンドリア DNA（mtDNA）に対してプライマーを設計しています。mtDNA は細胞種や細胞株、分化状態によってコピー数が違うことが報告されています。そのため、マウス検量線用のゲノム DNA は培養時に使用したマウスフィーダー細胞から調製する必要があり、本製品には添付しておりません。

＊2：フィーダーフリー hES/hiPS 細胞がない場合は、本製品添付の『Human Genomic DNA』をご利用ください。複数の健常人の全血プールから調製した高品質ゲノム DNA です。

操作

(1) 細胞 1×10^6 ～ 1×10^7 個を用いて、ゲノム DNA を取得する。＊3

＊3：NucleoSpin Tissue や NucleoSpin Tissue XS を用いると、簡便に高純度のゲノム DNA を抽出することが可能です。

(2) ゲノム DNA の希釈

(a) 解析サンプルを、ゲノム DNA 濃度が 10 ng/μl になるように EASY Dilution を用いて希釈する。

(b) 検量線用のゲノム DNA は、EASY Dilution を用いて以下のように希釈する。
・検量線用マウスゲノム DNA
100 pg/μl、10 pg/μl、1 pg/μl、0.1 pg/μl に希釈 (10 倍希釈)
・検量線用ヒトゲノム DNA
10 ng/μl、2 ng/μl、400 pg/μl、80 pg/μl に希釈 (5 倍希釈)

(3) リアルタイム PCR 用反応液の調製

以下の対応表に合わせて、マウス検出とヒト検出の反応液を必要本数＋α分調製する。*1

	マウス検出 (mtDNA)	ヒト検出 (核 DNA)
primer	Mouse_Mt_primer	Human_primer_Type I ～ III から 1 つ選択*2
検量線用ゲノム DNA	マウスゲノム DNA (希釈系列 4 点)	ヒトゲノム DNA (希釈系列 4 点)
解析サンプル	検体のゲノム DNA (各 10 ng/μl を 2 μl)	

＊1：検量線数と解析サンプル数に、ネガティブコントロール分も加えることを推奨します。
また、分注時の損失分も考慮して、実際の反応数よりも多めに Primer mix を調製してください。

＊2：Human_primer は、CNV 等の染色体変異に対応できるように 3 種類設計しています。
各培養細胞の CNV 変異に合わせて、3 種類の primer から 1 つを選択してください。
(Type I ＝ 3 番染色体、Type II ＝ 7 番染色体、Type III ＝ 15 番染色体)

【 Thermal Cycler Dice Real Time System の場合 】

● マウス検出の反応液

	(1 反応あたり)
SYBR *Premix Ex Taq* II (Tli RNaseH Plus) (2 × conc.)	12.5 μl
Mouse_Mt_primer (10 μM each)	1.0 μl
dH_2O	9.5 μl
Total	23 μl

● ヒト検出の反応液

	(1 反応あたり)
SYBR *Premix Ex Taq* II (Tli RNaseH Plus) (2 × conc.)	12.5 μl
Human_primer (10 μM each)	1.0 μl
dH_2O	9.5 μl
Total	23 μl

【 Life Technologies 社リアルタイム PCR 装置の場合 】

● マウス検出の反応液

	（1 反応あたり）
SYBR *Premix Ex Taq* II（Tli RNaseH Plus）(2 × conc.)	12.5 μl
Mouse_Mt_primer（10 μM each）	1.0 μl
ROX Reference Dye or ROX Reference Dye II＊3	0.5 μl
dH_2O	9.0 μl
Total	23 μl

● ヒト検出の反応液

	（1 反応あたり）
SYBR *Premix Ex Taq* II（Tli RNaseH Plus）(2 × conc.)	12.5 μl
Human_primer（10 μM each）	1.0 μl
ROX Reference Dye or ROX Reference Dye II＊3	0.5 μl
dH_2O	9.0 μl
Total	23 μl

＊ 3：StepOnePlus には ROX Reference Dye を、Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR System には ROX Reference Dye II を使用する。

(4) 調製した反応液を 0.2 ml チューブに 1 反応あたり 23 μl ずつ分注する。

(5) 希釈済みの検量線サンプルと解析サンプルを各 2 μl 添加する。

(6) 反応チューブを軽く遠心し、チューブ内壁や蓋の内側に付着した溶液を底に集める。

(7) 各チューブをリアルタイム PCR 用増幅装置にセットし、以下の条件で反応を行う。

※ リアルタイム PCR 増幅装置の操作方法は、各機種の取扱説明書をご参照ください。
（Thermal Cycler Dice Real Time System *II* の操作方法は、VII. Appendix 参照。）

初期変性（Hold）
Cycle：1
95℃　30 秒

2 step PCR
Cycle：40
95℃　5 秒
60℃　30 秒（検出：FAM）

融解曲線分析

(8) 反応終了後、解析を行う。

マウスフィーダー細胞由来ゲノム DNA の混入率の算出方法

反応終了後、FAM フィルターで増幅曲線を確認し、検量線を作成して以下の算出方法でマウスフィーダー細胞由来ゲノム DNA の混入率を算出します。

1) マウス検出の検量線から、解析サンプルに含まれるマウスゲノム量を算出。
2) ヒト検出の検量線から、解析サンプルに含まれるヒトゲノム量を算出。
3) マウスとヒトで定量して得られたゲノム総量から、マウスゲノムの混入率を算出。

マウス DNA 混入率（%）
＝マウスゲノム検出量／総量（マウスゲノム検出量＋ヒトゲノム検出量）×100

【マウスフィーダー細胞由来ゲノム DNA の混入率の算出例】

フィーダーフリー培養を行っている 3 種類の hES 細胞（約 1 × 10^6 個）からゲノム DNA を抽出し、マウスフィーダー細胞由来ゲノム DNA の混入率を調べました。

(a) マウス検出の検量線

鋳型量（pg）	Ct 値
200 pg	21.62
20 pg	25.21
2 pg	28.88
0.2 pg	32.79

数式：Y ＝− 3.718 X ＋ 30.103
R2 値：0.9996

(b) ヒト検出の検量線

鋳型量（pg）	Ct 値
20,000 pg	24.43
4,000 pg	26.69
800 pg	29.16
160 pg	31.45

数式：Y ＝− 3.366 X ＋ 38.882
R2 値：0.9997

(c) 解析サンプルの Ct 値から、ゲノム DNA 量を算出

	マウスのゲノム DNA 量		ヒトのゲノム DNA 量		総量（pg）	混入率
	Ct 値	検出量（pg）	Ct 値	検出量（pg）		
A	19.51	707	24.32	21,168	21,875	3.230%
B	22.52	110	24.21	22,822	22,932	0.478%
C	26.01	13	24.3	21,460	21,472	0.059%

[結果] それぞれのマウスフィーダー細胞由来ゲノム DNA の混入率は、A：3.23%、B：0.478%、C：0.059% となりました。

（B）マウス細胞のミトコンドリア DNA（mtDNA）コピー数の算出（オプション）

（1）使用しているマウスフィーダー細胞からゲノム DNA を抽出する*1。

＊1：NucleoSpin Tissue や NucleoSpin Tissue XS を用いると、簡便に高純度のゲノム DNA を抽出することが可能です。

（2）解析サンプルは、EASY Dilution を用いて以下のように希釈する。

・核 DNA（nDNA）検出用
　10 ng/μl、1 ng/μl、100 pg/μl 、10 pg/μl に希釈（10 倍希釈）
・ミトコンドリア DNA（mtDNA）検出反応用
　10 pg/μl

（3）リアルタイム PCR 解析用反応液の調製

以下の対応表に合わせて、nDNA 検出と mtDNA 検出の反応液を必要本数＋α分調製する。*2

＊2：検量線数と解析サンプル数に、ネガティブコントロール分も加えることを推奨します。
また、分注時の損失分も考慮して、実際の反応数よりも多めに primer mix を調製してください。

	nDNA 検出	mtDNA 検出
primer	Mouse_genome_primer	Mouse_Mt_primer
解析サンプル	マウス由来のゲノム DNA（同一サンプル）	
鋳型濃度	10 ng/μl、1 ng/μl、 100 pg/μl、10 pg/μl	10 pg/μl

【 Thermal Cycler Dice Real Time System の場合 】

● nDNA 検出の反応液

	（1 反応あたり）
SYBR *Premix Ex Taq* II（Tli RNaseH Plus）	12.5 μl
Mouse_genome_primer（10 μM）	1.0 μl
dH_2O	9.5 μl
Total	23 μl

● mtDNA 検出の反応液

	（1 反応あたり）
SYBR *Premix Ex Taq* II（Tli RNaseH Plus）	12.5 μl
Mouse_Mt_primer（10 μM）	1.0 μl
dH_2O	9.5 μl
Total	23 μl

【 Life Technologies 社リアルタイム PCR 装置の場合 】

● nDNA 検出の反応液

	（1 反応あたり）
SYBR *Premix Ex Taq* II（Tli RNaseH Plus）	12.5 μl
Mouse_genome_primer（10 μM）	1.0 μl
ROX Reference Dye or ROX Reference Dye II＊3	0.5 μl
dH_2O	9.0 μl
Total	23 μl

● mtDNA 検出の反応液

	（1 反応あたり）
SYBR *Premix Ex Taq* II（Tli RNaseH Plus）	12.5 μl
Mouse_Mt_primer（10 μM）	1.0 μl
ROX Reference Dye or ROX Reference Dye II＊3	0.5 μl
dH_2O	9.0 μl
Total	23 μl

＊ 3：StepOnePlus には ROX Reference Dye を、Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR System には ROX Reference Dye II を使用する。

(4) 調製した反応液を 0.2 ml チューブに 1 反応あたり 23 μl ずつ分注する。

(5) 希釈済みの解析サンプルを各 2 μl ずつ添加する。

(6) 反応チューブを軽く遠心し、チューブ内壁や蓋の内側に付着した溶液を底に集める。

(7) 各チューブをリアルタイム PCR 用増幅装置にセットし、以下の条件で反応する。

※ リアルタイム PCR 増幅装置の操作方法は、各機種の取扱説明書をご参照ください。
（Thermal Cycler Dice Real Time System *II* の操作方法は、VII. Appendix 参照。）

初期変性（Hold）
Cycle：1
95℃　30 秒

2 step PCR
Cycle：40
95℃　5 秒
60℃　30 秒（検出：FAM）

融解曲線分析

(8) 反応終了後、解析を行う。

マウス細胞の mtDNA コピー数の算出方法

反応終了後、FAM フィルターで増幅曲線を確認し、マウス nDNA の解析結果を用いて検量線を作成した後、検量線に対してマウス mtDNA 検出の Ct 値をあてはめ、nDNA を基準とする mtDNA の相対的なコピー数を算出する。

1）マウスの nDNA コピー数の算出式

以下の式を参考に検量線に用いたマウス nDNA 量をコピー数に変換する。

マウスの nDNA コピー数
＝ 6.02×10^{23}（アボガドロ定数）×鋳型量（g）／（ゲノムサイズ bp ×平均分子量）

・マウスゲノムサイズ（bp）：3.3×10^{9}
・平均分子量：　660

nDNA 量＊	nDNA コピー数
20,000 pg	5.528×10^{3}
2,000 pg	5.528×10^{2}
200 pg	5.528×10^{1}
20 pg	5.528

＊：使用した nDNA の総量で表示しています。

2）nDNA コピー数（検量線横軸）と nDNA 検出の Ct 値（検量線縦軸）を用いて、検量線を作成する。

3）mtDNA 検出の Ct 値を、2）の検量線にあてはめて相対的な mtDNA コピー数を算出する。

4）同じ鋳型量における mtDNA コピー数を nDNA コピー数で割ることで、nDNA を基準とする mtDNA コピー数比率を算出する。

mtDNA コピー数比率＝ mtDNA コピー数／ nDNA コピー数

※ mtDNA、nDNA コピー数は同一鋳型量で反応させた時の値を使用

【マウス細胞の mtDNA コピー数の算出例】

hES 細胞の培養に用いる MEF（約 1×10^{6} 個）からゲノム DNA を抽出し、マウス細胞の核（nDNA）に対してのミトコンドリア DNA コピー数比率を調べました。

（a）nDNA 検出の検量線

鋳型量（pg）	nDNA コピー数	Ct 値
20,000 pg	5.528×10^{3}	24.64
2,000 pg	5.528×10^{2}	27.81
200 pg	5.528×10^{1}	30.38
20 pg	5.528	33.93

数式： $Y = -3.044X + 36.016$
R2 値：0.9965

（b）mtDNA 検出 の Ct 値から、mtDNA のコピー数比率を算出

鋳型（pg）	Ct 値	mtDNA コピー数	nDNA コピー数	コピー数比率
20	25.40	3,074	5.528	556

［結果］ 今回の hES 細胞の培養に用いた MEF は、核（nDNA）に対して、556 倍のミトコンドリア DNA コピー数比率となりました。

※ 記載データは参考例です。マウス細胞種、細胞株や分化状態によって mtDNA コピー数は異なりますのでご注意ください。

VII. Appendix

【 Thermal Cycler Dice Real Time System // を用いた操作方法 】

Thermal Cycler Dice Real Time System // を使用した場合の操作方法について示します。

1）ランファイルを新規作成し、AQ（S）Absolute Quantification Single を選択する。

2）Plate Setup の Target & Sample Setting 画面で検出する Dye として FAM を、Sample List にスタンダード（STD）とサンプル（UNKN）を登録し、Update ボタンを押す。

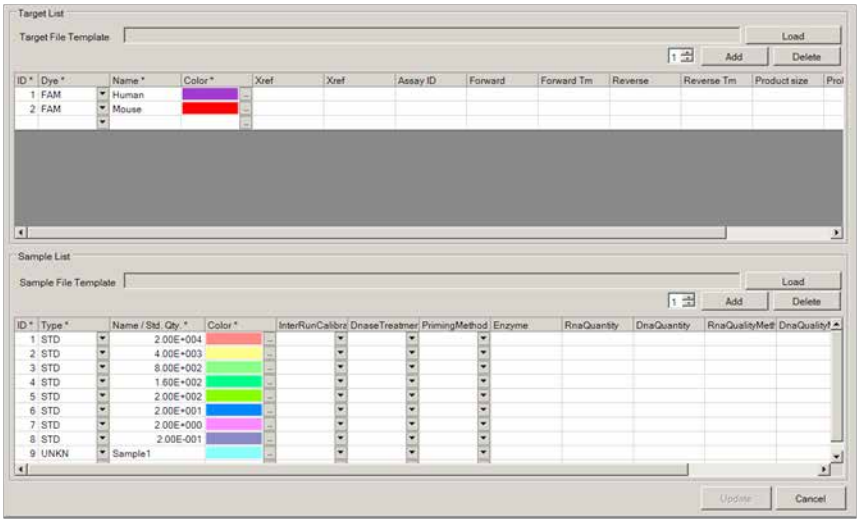
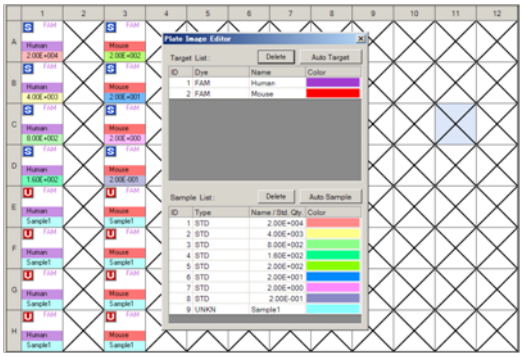


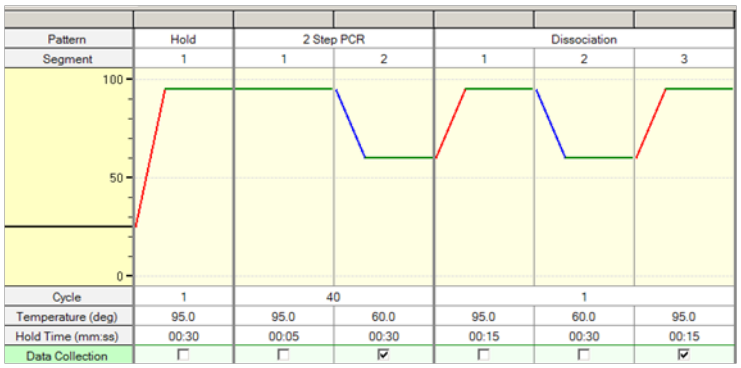
Plate Setup の Plate Image の画面で Update した条件を解析予定のウェルに登録します。



（A）マウスフィーダー細胞由来ゲノム DNA の混入率算出の場合
・Target List は、マウスとヒトで作成します
・STD に鋳型の総量（pg）を入力します。（例：100 pg　2 μl → 200 pg）

（B）マウス細胞の mtDNA コピー数の算出の場合
・Target List は、相対定量であるため 1 つとなります。
・STD は、マウスゲノムの検量線のコピー数で入力します。

3）反応条件設定画面で、以下の反応条件の登録を行う。

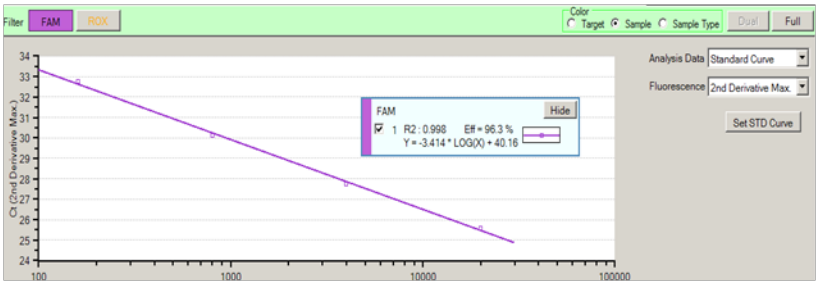


初期変性（Hold）
Cycle：1
95℃　30 秒
2 step PCR
Cycle：40
95℃　5 秒
60℃　30 秒（検出：FAM）
融解曲線分析

4）画面右下の "Start Run" ボタンをクリックし、任意の Run File 名を付けて反応を開始する。

5）結果解析

・反応終了後、検出フィルター FAM を選択し、Result/Analysis の画面において、Analysis Data で「Standard Curve」、Fluorescence で「2nd Derivative Max」を選択し、検量線の R2 が 0.97 以上であることを確認する。下図に典型的な検量線を示す。



・Result/Analysis の画面において、Analysis Data で「Text Report」、Fluorescence で「Data Set of Each Well」、もしくは「Data Set of Replicate」を選択する。

（A）マウスフィーダー細胞由来ゲノム DNA の混入率算出の場合
・Qty（SDM）が、検出量を表します。
・それぞれのマウスとヒトの検出量を合計して総量から、マウス混入率を算出。

マウス DNA 混入率（%）
＝マウスゲノム検出量／総量（マウスゲノム検出量＋ヒトゲノム検出量）× 100

（B）マウス細胞の mtDNA コピー数の算出の場合
・Qty（SDM）が、コピー数を表します。
・同じ鋳型量における mtDNA コピー数を nDNA コピー数で割ることで、mtDNA コピー比率を算出。

mtDNA コピー数比率＝ mtDNA コピー数／ nDNA コピー数

VIII. データについての注意事項

（1）それぞれの primer mix において、ネガティブコントロールでは増幅が確認されないことをご確認ください。
→ ネガティブコントロールで検出された場合、融解曲線温度（Tm 値）が異なっていれば非特異的増幅となります。ヒト検出プライマーでは、非特異な増幅が Ct 値 35 以上で見られることがありますので、適宜ご判断ください。

（2）検量線の相関係数（R2）が 0.97 以上あることをご確認ください。
→ 0.97 未満は、定量値の誤差が大きくなりますので、再解析を推奨します。

IX. トラブルシューティング

・検量線が確認されない。
→ 検量線の増幅物が確認されない場合は、検量線に対応した鋳型を使用しているかご確認ください。
→ 検量線用のゲノム DNA の品質を確認し、指定の濃度に希釈されているかご確認ください。
（ゲノム DNA の品質が低いと定量性に影響が出てくる恐れがありますのでご注意ください。）

・混入率算出の場合でマウス mtDNA 検出の Ct 値が出ない。
→検出限界以下の混入の場合、Ct 値は検出外となり、数値は出ません。

・定量性がない。
→ 検量線の希釈があっているかご確認してください。
→ 鋳型のゲノム DNA の品質をご確認ください。純度の低いゲノム DNA は、リアルタイム PCR において反応阻害を起こす可能性があります。その場合は、ゲノム DNA を再精製または再調製してください。

X. 関連製品

SYBR® *Premix Ex Taq*™ II (Tli RNaseH Plus)（製品コード RR820S/A/B）
NucleoSpin Tissue（製品コード 740952.10/.50/.250）
NucleoSpin Tissue XS（製品コード 740901.10/.50/.250）
Human Genomic DNA（製品コード 636401）
Thermal Cycler Dice® Real Time System *II*（製品コード TP900/TP960）
Thermal Cycler Dice® Real Time System *Lite*（製品コード TP700/TP760）
Thermal Cycler Dice® Real Time System Single（製品コード TP850/TP870）
0.2 ml Hi-8-Tube（製品コード NJ300）
0.2 ml Hi-8-Dome Cap（製品コード NJ301）
96 well Hi-Plate for Real Time（製品コード NJ400）
Sealing Film for Real Time（製品コード NJ500）

XI. 注意

・本製品は、研究用試薬です。ヒト、動物への医療、臨床診断には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
・ライセンスに関する最新の情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。
・Thermal Cycler Dice はタカラバイオの、SYBR は Molecular Probe Inc. の登録商標です。*Premix Ex Taq* はタカラバイオの商標です。その他、本説明書に記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

NOTICE TO PURCHASER: LIMITED LICENSE

[L11] SYBR® Green I
This product is provided under an intellectual property license from Life Technologies Corporation. The transfer of this product is contingent on the buyer using the purchased product and components of the product solely in research conducted by the buyer (whether the buyer is an academic or for-profit entity). The sale of this product is expressly conditioned on the buyer not using the product or its components for any Commercial Purposes. Commercial Purposes means any activity by a party to generate revenue, which may include, but is not limited to use of the product or its components: (i) in manufacturing; (ii) to provide a service, information, or data in return for payment; (iii) for therapeutic, diagnostic or prophylactic purposes; or (iv) for resale, regardless of whether they are resold for use in research. For information on purchasing a license to this product for purposes other than research, contact Life Technologies Corporation, 5791 Van Allen Way, Carlsbad, CA 92008 USA or outlicensing@lifetech.com.

[L46] SYBR/Melting Curve Analysis
The purchase of this product includes a limited, non-transferable license for all fields other than human or veterinary in vitro diagnostics under specific claims of U.S. Patent Nos. 6,174,670, 6,569,627 and 5,871,908, owned by the University of Utah Research Foundation or Evotec Biosystems GmbH and licensed to Idaho Technology, Inc. and Roche Diagnostics GmbH, to use only the enclosed amount of product according to the specified protocols. No right is conveyed, expressly, by implication, or by estoppel, to use any instrument or system under any claim of U.S. Patent Nos. 6,174,670, 6,569,627 and 5,871,908, other than for the amount of product contained herein.

[L52] Rox Reference Dye (Research Field)
Use of this product is covered by one or more of the following US patents and corresponding patent claims outside the US: 5,928,907. The purchase of this product includes a limited, non-transferable immunity from suit under the foregoing patent claims for using only this amount of product for the purchaser's own internal research. No right under any other patent claim and no right to perform commercial services of any kind, including without limitation reporting the results of purchaser's activities for a fee or other commercial consideration, is conveyed expressly, by implication, or by estoppel. This product is for research use only. Further information on purchasing licenses may be obtained by contacting the Director of Licensing, Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, USA.

[M40] Thermostable RNase H
This product is covered by the claims of U.S. Patent No. 7,422,888 and its foreign counterpart patent claims.

[M57] LA Technology
This product is covered by the claims 6-16 outside the U.S. corresponding to the expired U.S. Patent No. 5,436,149.

[**M82] Tli RNaseH Plus**
This product is the subject of the pending JP patent application.

製品についての技術的なお問い合わせ先
TaKaRa テクニカルサポートライン
Tel 077-543-6116 Fax 077-543-1977
ホームページアドレス http://www.takara-bio.co.jp/
タカラバイオ株式会社